

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-225747

(43)Date of publication of application : 24.08.1999

(51)Int.Cl.

C12N 1/20
A01N 63/00
C12N 1/14
C12N 1/16
// C05F 11/08
(C12N 1/20
C12R 1:07)
(C12N 1/14
C12R 1:80)
(C12N 1/14
C12R 1:66)
(C12N 1/16
C12R 1:645)

(21)Application number : 10-029537

(71)Applicant : KATAKURA CHIKKARIN CO LTD

(22)Date of filing : 12.02.1998

(72)Inventor : NOGUCHI KATSUNORI
KINOOKA YUZO
MASUMURA HIROAKI
AKAZAWA TAKANORI

(54) MICROORGANISM DEGRADING ORGANIC MATERIAL, CULTURING MATERIAL
COMPOSITION THEREOF, AND PREVENTION OF FAIRY RING DISEASE BY USING THE
CULTURING MATERIAL COMPOSITION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new microorganism useful for degradation of organic materials such as composting of organic materials such as straw, bark and waste of stock raising, and degradation promotion of garbage.

SOLUTION: This new microorganism is selected from Penicillium sp. CF-1 (FERM P-16479), Penicillium sp. FS-26 (FERM P-16480) and Penicillium sp. FS-29 (FERM P-16481), having cellulose-degrading activities, and Bacillus sp. LB-5 (FERM P-16485), Debaryomyces sp. LB-31 (FERM P-16484), Aspergillus sp. LF-3 (FERM P-16482) and Aspergillus sp. FS-35 (FERM P-16483), having lignin-degrading activities. The cultivating material composition is preferably prepared by including one or more kinds of the new microorganisms and a cultivating material such as vermiculite.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-225747

(43) 公開日 平成11年(1999) 8月24日

(51) Int.Cl. ⁹	識別記号	F I	
C 1 2 N 1/20		C 1 2 N 1/20	A
			F
A 0 1 N 63/00		A 0 1 N 63/00	F
C 1 2 N 1/14		C 1 2 N 1/14	A
			C
審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 15 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願平10-29537	(71) 出願人	000240950 片倉チッカリン株式会社 東京都千代田区大手町1丁目2番3号
(22) 出願日	平成10年(1998) 2月12日	(72) 発明者	野口 勝憲 茨城県土浦市並木5丁目5511番地 片倉チ ッカリン株式会社筑波総合研究所内
		(72) 発明者	紀岡 雄三 茨城県土浦市並木5丁目5511番地 片倉チ ッカリン株式会社筑波総合研究所内
		(72) 発明者	増村 弘明 東京都千代田区大手町一丁目2番3号 片 倉チッカリン株式会社内
		(74) 代理人	弁理士 平木 祐輔 (外1名) 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 有機物分解微生物、その培養資材組成物及び当該培養資材組成物を用いたフェアリーリング病の

(57) 【要約】 防除方法

【解決手段】 本発明はセルロースあるいはリグニン分解菌であり、低温・中温・高温で活性をしめすCF-1、CF-3、FS-26、FS-29、FS-35、LB-5、LB-31の新規な7菌株とBS-1SMCP III、及びこれら微生物を用いた培養資材組成物並びに芝のフェアリーリング病の防除剤である。

【効果】 本発明によればオガクズ、パークなどの木質物、イナワラ、ムギワラなどのワラ類、モミガラ、フスマなどの穀物残さ、茶・果樹等の剪定枝、野菜等収穫残さ、ゴルフ場などよりでる刈り芝、家庭から排泄される生ゴミ、家畜排泄物、食品産業廃棄物等の難分解性有機物の早期分解が可能となり、良質な堆肥ができる。また、本発明によりフェアリーリング病を防除することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 セルロース分解能を有するペニシリウム・エスピー (Penicillium sp.) CF-1、ペニシリウム・エスピー (Penicillium sp.) FS-26又はペニシリウム・エスピー (Penicillium sp.) FS-29から選ぶ微生物。

【請求項2】 リグニン分解能を有するバチルス・エスピー (Bacillus sp.) LB-5。

【請求項3】 リグニン分解能を有するデバリオミセス・エスピー (Debaryomyces sp.) LB-31。

【請求項4】 リグニン分解能を有するアスペルギルス・エスピー (Aspergillus sp.) LF-3又はアスペルギルス・エスピー (Aspergillus sp.) FS-35。

【請求項5】 請求項1～4記載の微生物の少なくとも一種と培養資材とを含む培養資材組成物。

【請求項6】 請求項1～4記載の微生物の少なくとも一種とバチルス・エスピー (Bacillus sp.) BS-ISMCP I IIと培養資材とを含む培養資材組成物。

【請求項7】 前記培養資材がパーミキュライト、ゼオライト、バーライト、モンモリロナイトなどの無機質鉱物、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸アンモニウム、過磷酸石灰、リン酸アンモニウム、硫酸カリウム、塩化カリウムなどの化成肥料、硫酸第一鉄、塩化第一鉄などの鉄化合物、ケイソウ土、焼成ケイソウ土、サンゴ砂、木炭粉末、活性炭などの多孔質物、ナタネ油かす、コメヌカ油かす、ヒマシ油かす、ダイズ油かすなどの植物質肥料、蒸製骨粉、生骨粉、脱脂骨粉、肉骨粉、肉かす、魚かす、フェザーミール、蒸製毛粉、カニガラ、皮粉、さなぎかすなどの動物質肥料およびこれらの混合物からなる群より選抜されたものであることを特徴とする請求項5および6記載の培養資材組成物。

【請求項8】 パーミキュライト、ゼオライト、バーライト、モンモリロナイトなどの無機質鉱物、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸アンモニウム、過磷酸石灰、リン酸アンモニウム、硫酸カリウム、塩化カリウムなどの化成肥料、硫酸第一鉄、塩化第一鉄などの鉄化合物、ケイソウ土、焼成ケイソウ土、サンゴ砂、木炭粉末、活性炭などの多孔質物、ナタネ油かす、コメヌカ油かす、ヒマシ油かす、ダイズ油かすなどの植物質肥料、蒸製骨粉、生骨粉、脱脂骨粉、肉骨粉、肉かす、魚かす、フェザーミール、蒸製毛粉、カニガラ、皮粉、さなぎかすなどの動物質肥料およびこれらの混合物からなる群より選抜された培養資材中で請求項1～4記載の微生物の少なくとも一種を培養してなることを特徴とする培養資材組成物。

【請求項9】 パーミキュライト、ゼオライト、バーライト、モンモリロナイトなどの無機質鉱物、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸アンモニウム、過磷酸石灰、リン酸アンモニウム、硫酸カリウム、塩化カリウムなどの化成肥料、硫酸第一鉄、塩化第一鉄などの鉄化

合物、ケイソウ土、焼成ケイソウ土、サンゴ砂、木炭粉末、活性炭などの多孔質物、ナタネ油かす、コメヌカ油かす、ヒマシ油かす、ダイズ油かすなどの植物質肥料、蒸製骨粉、生骨粉、脱脂骨粉、肉骨粉、肉かす、魚かす、フェザーミール、蒸製毛粉、カニガラ、皮粉、さなぎかすなどの動物質肥料およびこれらの混合物からなる群より選抜された培養資材中で請求項1～4記載の微生物の少なくとも一種とバチルス・エスピー (Bacillus sp.) BS-ISMCP IIIを培養してなることを特徴とする培養資材組成物。

【請求項10】 請求項5～9記載の培養資材組成物を用いることを特徴とする芝のフェアリーリング病の防除方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は新規微生物および新規微生物を添加した培養資材組成物であり、イナワラ、パーク、畜産廃棄物などの有機物の堆肥化や生ゴミの分解促進などの有機物分解に有用なものである。さらに当該培養資材組成物を用いた芝のフェアリーリング病の防除方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】従来有機物の腐熟促進を目的とする資材としては、石灰窒素、苦土石灰等の石灰質資材が一般的に使われている。また、近年では微生物や酵素を使った資材も数多く流通している。しかし、石灰窒素や苦土石灰を加えた場合、有機物の分解に伴うpHの上昇によりアルカリ過剰となる。一方、微生物や酵素を使った資材では添加している微生物の種類を明らかにしていない。かかる現状のもとで微生物を用いたより効果の高いものが求められている。

【0003】また、ゴルフ場では刈り芝等の有機物が土壌に蓄積することにより、フェアリーリング病が発生し、この防除には化学農薬に頼っているが、シロを形成した担子菌類は容易に死滅させることができず、芝草の外観を大きく損なう。最終的には芝の更新が必要となり、経済的損失は大きい。そこで、化学農薬に頼らないフェアリーリング病の防除方法が望まれている。

【0004】なお、フェアリーリング病とは芝草が円形または弧状に枯れあがる病害であり、サッチおよび土壌に多量の担子菌類が生息すると発生するものである。この病原菌は主としてハラタケ科の担子菌類である。このフェアリーリング病は水分および肥料の少ないフェアウェー、サッチ層の発達したターフやサンドグリーンで被害を生じやすいものである。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明が解決しようとする課題は、分解が困難なセルロースおよびリグニンを分解する新規微生物、これらの微生物を使ったオガク

ズ、パークなどの木質物、イナワラ、ムギワラなどのワラ類、モミガラ、フスマなどの穀物残さ、茶・果樹等の剪定枝、野菜等収穫残さ、ゴルフ場などよりでる刈り芝、家庭から排泄される生ゴミ、家畜排泄物、食品産業廃棄物等の分解を促進する培養資材組成物、および前記微生物を含む芝のフェアリーリング病の防除剤を提供することにある。

【0006】

【課題を解決させるための手段】即ち、本発明はセルロース分解能を有する*Penicillium* sp. CF-1、*Penicillium* sp. FS-26又は*Penicillium* sp. FS-29から選ぶ微生物である。

【0007】さらに、本発明はリグニン分解能を有する*Bacillus* sp. LB-5である。

【0008】さらに、本発明はリグニン分解能を有する*Debaryomyces* sp. LB-31である。

【0009】さらに、本発明はリグニン分解能を有する*Aspergillus* sp. LF-3又は*Aspergillus* sp. FS-35である。

【0010】さらに、本発明は上記微生物の少なくとも一種と培養資材とを含む培養資材組成物である。

【0011】さらに、本発明は上記微生物とセルロース分解能を有する*Bacillus* sp. BS-ISMCP III の少なくとも一種と培養資材とを含む培養資材組成物である。

【0012】前記培養資材としてはパーミキュライト、ゼオライト、パーライト、モンモリロナイトなどの無機質鉱物、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸アンモニウム、過燐酸石灰、リン酸アンモニウム、硫酸カリウム、塩化カリウムなどの化成肥料、硫酸第一鉄、塩化第一鉄などの鉄化合物、ケイソウ土、焼成ケイソウ土、サンゴ砂、木炭粉末、活性炭などの多孔質物、ナタネ油かす、コメヌカ油かす、ヒマシ油かす、ダイズ油かすなどの植物質肥料、蒸製骨粉、生骨粉、脱膠骨粉、肉骨粉、肉かす、魚かす、フェザーミール、蒸製毛粉、カニガラ、皮粉、さなぎかすなどの動物質肥料およびこれらの混合物からなる群より選抜されたものが挙げられ

る。

【0013】さらに、本発明は、上記微生物が上記培養資材中で培養してなることを特徴とする培養資材組成物である。

【0014】さらに、本発明は当該培養資材組成物を用いた芝のフェアリーリング病の防除方法に関するものである。

【0015】

【発明の実施の態様】以下、本発明を詳細に説明する。

【0016】本発明のリグニンまたはセルロース分解微生物の分離、選抜方法及びこれら微生物を含む培養資材組成物の製造法について説明する。

【0017】〔セルロース分解菌の分離〕各地より採取した土壌、堆肥などから、希釈平板法により分離した菌株をCMC（カルボキシメチルセルロース）含有平板培地（CMC 5g、 KH_2PO_4 4g、 Na_2HPO_4 6g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 200mg、 CaCl_2 1mg、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、酵母エキス 1g、 H_3BO_3 10 μg 、 MnSO_4 10 μg 、 ZnSO_4 70 μg 、 CuSO_4 50 μg 、 MoO_3 10 μg 、寒天 15g、蒸留水 1000ml、pH 7）を用いて、10℃、30℃、50℃で培養し、培地上にクリアゾーンを形成した菌株を選抜した。この選抜した菌株を0.5%CMC含有無機塩液体培地50mLに添加して、10℃、30℃、50℃で1週間培養後、培養液を遠心分離した上澄み液を以下の分析に供した。すなわち、得られた上澄み液の全糖量をフェノール硫酸法、還元糖量を改変ソモギ法により定量し、全糖量の減少が著しい菌株もしくは還元糖の生成量が多い菌株をセルロース分解能が高い菌株として選抜した。同時に、イナワラを粉砕し尿素を添加して炭素率を調整後、イナワラの最大保水量相当量の蒸留水を加え、オートクレーブで121℃で30分滅菌した。ここへ菌株を添加して選抜した温度で4週間インキュベートした後の炭素率を測定した。その結果を表1に示す。

【0018】

【表1】

セルロース分解菌の分解特性（無添加を100とした指数）

	全糖	還元糖	還元糖率	炭素	窒素	炭素率
BS-ISMCP III	98	142	145	100	95	105
CF-1	87	644	738	98	124	79
FS-26	94	303	321	98	117	84
FS-29	24	133	556	98	106	93

還元糖率=還元糖/全糖×100、炭素率=炭素/窒素×100

【0019】〔リグニン分解菌の分離〕各地より採取した土壌、堆肥などから、希釈平板法により分離した菌株をリグニンスルホン酸含有平板培地（リグニンスルホン酸Na 0.1g、 NH_4NO_3 1.0g、 K_2HPO_4 1.0g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g、蒸留水1000ml、pH 6.8）を用いて、30℃で培養し、パーベンダム反応陽性株、グアヤコール添加培地に

における赤色反応陽性株の選抜、プロトカテキン酸分解能による選抜により一次選抜を行った。

【0020】上記の方法により選抜した菌株を、木粉抽出液体培地（木粉20g、 NH_4NO_3 1.0g、 K_2HPO_4 1.0g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g、蒸留水1000ml、pH 6.8）へ接種し30℃で2週間振とう培養を行い、この培養液を遠心分離し

た上澄み液を以下の分析に供した。すなわち、得られた上澄み液の全糖量をフェノール硫酸法、還元糖量を改変ソモギ法、蛋白質をLowry法、紫外部吸収物質を280nmにおける吸光度測定により定量した。その結果を表2に示

す。

【0021】

【表2】

リグニン分解菌の分解特性 (無添加を100とした指数)

	全糖	還元糖	還元糖率	蛋白質	紫外部吸収物質
LB-5	9	16	183	151	140
LF-3	4	15	397	134	126
LB-31	20	14	71	105	111
FS-35	27	38	141	198	143

還元糖率=還元糖/全糖×100

【0022】本発明で使用する新規微生物の由来及びその菌学的性質について説明する。

【0023】1) LB-5株は、パーク堆肥より分離した50℃前後の高温域でリグニン分解能を有する新規微生物である。本菌株の特徴は表3に示した通りであり、形態および生理試験からBacillusに属し、近縁種としてBacillus azotoformansがあげられるが、グルコース、マ

ンニトールの資化性およびデンプンの分解などで異なり、したがって、この菌株を新種相当と認定した。そして、この菌株をBacillus sp. LB-5とした。この菌株は工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-16485として寄託している。

【0024】

【表3】

Bacillus sp. LB-5の特徴

	LB-5	Bacillus azotoformans
形態	桿菌	桿菌
細胞の長さ×幅(μm)	(5~10) × (0.9~1.2)	(3~10) × (0.9~1.0)
グラム反応	±	-
胞子の形:楕円形	+	+
球形		
細胞内の胞子の位置:中央		
端	+	+
移動性	-	-
嫌気条件下での生育	-	-
生育温度	10~50℃	<40℃
V-P 反応	-	-
エッグヨーク反応	-	-
pH5.7の培地における生育	-	-
グルコースからの酸産生	+	-
アラビノースの酸産生	-	ND
キシロースの酸産生	-	-
マンニトールの酸産生	+	-
塩化ナトリウム(5~10%) 添加培地での生育	-	-
スターチの加水分解	+	-
カゼインの分解	-	ND
ツイーン80資化性	-	-
リボース資化性	-	-

【0025】2) LB-31株は、北海道サロベツ泥炭より分離した10℃前後の低温域でリグニン分解能を有する新規微生物である。本菌株の特徴は表4、5の通りであり、有孢子酵母類に分類され、栄養細胞、胞子の形態および形成状況およびコロニーの形態、色などからDebaryomyces castelliiの近縁種であるが、糖の資化性等で

異なり、したがって、この菌株を新種相当と認定した。そして、この菌株をDebaryomyces sp. LB-31とした。この菌株は工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-16484として寄託している。

【0026】

【表4】

Debaryomyces sp. LB-31 の特徴

各培地における生育状態			栄養細胞の形態・増殖法		子嚢胞子の形成と形態	
MY液体培地	MY寒天培地	PD寒天培地	形態	増殖	形成方式	形態
＋、やや濁り、粒状の生育あり	＋、生育中程度、粘質、11～12℃褐色	＋、生育中程度、半透明、11～12℃褐色	球形、楕円形	多極出芽、偽菌糸を形成しない	異胎接合	球形、卵形、いぼ状、油滴を有する

【0027】

【表5】

LB-31の生理試験

	LB-31	<i>Debaryomyces hansenii</i>
細胞の長さ (μm)	2～10μ	3～7μ
生育温度	5～35 (37℃で生育しない)	37℃で生育しない
塩化ナトリウム	0～12%	<15%
D-グルコース	＋	＋
D-ガラクトース	＋	－
シュクロース	＋	＋
ラクトース	－	－
D-アラビノース	＋	－
L-アラビノース	±	＋
D-リボース	＋	＋
D-キシロース	＋	＋
D-マンニトール	＋	＋
D-メレジトース	－	－
L-ラムノース	－	－
L-ソルボース	＋	±
マルトース	＋	＋
トレハロース	＋	＋
ラフィノース	＋	－
グリセロール	±	＋
α-メチル-D-グルコシド	－	－
クエン酸	－	－
サリシン	－	－

【0028】 3) CF-1株は、腐朽した木材より分離した10℃前後の低温域でセルロース分解能を有する新規微生物である。本菌株の特徴は表6、7の通りであり、形態等の特徴から近縁種として*Penicillium glabrum*があげられるが、糖の資化性の一部が異なり、したがって、この菌株を新種相当と認定した。そして、この菌株

を*Penicillium* sp. CF-1とした。この菌株は工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-16479として寄託している。

【0029】

【表6】

Penicillium sp. CF-1 の特徴

属名	形態			菌落の形状		
	菌糸	胞子	分生子	Czapek 寒天培地	麦芽汁寒天培地	PDA寒天培地
<i>Penicillium</i>	隔壁あり	分生子、単細胞、球形、短棒形、卵球形	分生子、単細胞、球形、短棒形	濃緑色、粉状	中央部緑色、周辺白色、外縁部褐色、粉状	中央部緑色、周辺やや白色、綿状

【0030】

【表7】

Penicillium sp. CF-1 の資化性

炭素源	CF-1	<i>Penicillium glabrum</i>
L-エリスリトール	+	+
D-メレビオース	+	+
D-フルクトース	+	+
β -メチル-D-グルコシド	+	+
イノシン	+	+
デキストリン	+	+
クエン酸	+	+
グリコーゲン	+	+
D-ガラクトース	+	+
D-ラフィノース	+	+
L-オルニチン	+	+
ゲンチオビオース	+	+
L-ラムノース	+	+
D-ガラクトツロン酸	+	+
D,L-乳酸	+	+
L-アラニン	+	+
L-プロリン	+	+
シュクロース	+	+
D-グルコン酸	+	+
N-アセチル-D-グルコサミン	+	+
D-トレハロース	+	+
L-アスパラギン	+	+
D-グルクロン酸	+	+
グリセロール	+	+
L-アラビノース	+	+
マルトース	+	+
D-マンニトール	+	+
メチルビルビン酸	+	+
セロビオース	+	+
D-マンノース	+	+
コハク酸	+	+
グリシル-L-グルタミン酸	+	+
γ -アミノ酪酸	+	+
ラクツロース	+	-
β -ヒドロキシ酪酸	+	-
L-ヒドロキシプロリン	-	+
L-アラビコース	-	+

【0031】4) LF-3株は、土壌より分離した30℃前後の中温域でリグニン分解能を有する新規微生物である。本菌株の特徴は表8、9の通りであり、形態等の特徴から近縁種とし*Aspergillus nidulans*があげられるが、糖の資化性の一部が異なり、したがって、この菌株

を新種相当と認定した。そして、この菌株を*Aspergillus* ssp. LF-3とした。この菌株は工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-16482として寄託している。

【0032】

【表8】

Aspergillus sp. LF-3 の特徴

菌名	形態			菌落の形状		
	菌糸	胞子		Czapek 寒天培地	麦芽琼脂寒天培地	PDA寒天培地
<i>Aspergillus</i>	隔壁あり	分生子、単細胞、球形	フィリメント状	白色、中心部緑色、粉状	緑色、外縁部白色帯状	緑色、周辺部白色粉状

【0033】

【表9】

Aspergillus sp. LF-3 の資化性

炭素源	LF-3	<i>Aspergillus nidulans</i>
i-エリスリトール	+	+
D-メレピオース	+	+
p-ヒドロキシフェニル酢酸	+	+
D-フルクトース	+	+
β -メチル D-グルコシド	+	+
コハク酸	+	+
デキストリン	+	+
クエン酸	+	+
グリコーゲン	+	+
D-ガラクトース	+	+
D-ラフィノース	+	+
L-オルニチン	+	+
D, L-乳酸	+	+
L-アラニン	+	+
L-プロリン	+	+
シュクロース	+	+
D-グルコン酸	+	+
N-アセチル-D-グルコサミン	+	+
D-トレハロース	+	+
L-アスパラギン	+	+
ツラノース	+	+
D-グルクロン酸	+	+
グリセロール	+	+
L-アラビノース	+	+
マルトース	+	+
L-グルタミン酸	+	+
D-マンニトール	+	+
メチルビルビン酸	+	+
セバシン酸	+	+
セロビオース	+	+
D-マンノース	+	+
2-アミノエタノール	+	-
γ -ヒドロキシ酪酸	-	+
グルコース-6-リン酸	-	+
α -ケト酪酸	-	+

【0034】5) FS-26株は、泥炭より分離した10℃～30℃の低中温域でセルロース分解能を有する新規微生物である。本菌株の特徴は表10、11の通りであり、形態等の特徴から近縁種とし*Penicillium funiculosum*があげられるが、糖の資化性の一部が異なり、したがって、この菌株を新種相当と認定した。そして、この

菌株を*Penicillium* sp. FS-26とした。この菌株は工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-16480として寄託している。

【0035】

【表10】

Penicillium sp. FS-26 の特徴

属名	形態			集落の形状		
	菌糸	胞子		Czapek 寒天培地	麦芽琼脂寒天培地	PDA寒天培地
<i>Penicillium</i>	隔壁あり	分生子, 単細胞, 亞球形	ベニシ模様の生体非対称	緑色 綿状	緑色 粉状	薄い緑色 放射状

【0036】

【表11】

Penicillium sp. FS-26の資化性

炭素源	FS-26	<i>Penicillium funiculosus</i>
i-エリスリトール	+	+
D-フルクトース	+	+
B-メチル D-グルコシド	+	+
デキストリン	+	+
クエン酸	+	+
グリコーゲン	+	+
D-ガラクトース	+	+
D-ラフィノース	+	+
ゲンチオビオース	+	+
L-ラムノース	+	+
D-ソルビトール	+	+
L-アラニン	+	+
L-プロリン	+	+
D-イノシトール	+	+
シュクロース	+	+
D-グルコン酸	+	+
L-ピログルタミン酸	+	+
D-トレハロース	+	+
L-アスパラギン	+	+
ツラノース	+	+
キナ酸	+	+
L-アスパラギン酸	+	+
L-アラビノース	+	+
マルトース	+	+
キシリトール	+	+
D-アラビトール	+	+
D-マンニトール	+	+
セロビオース	+	+
D-マンノース	+	+
コハク酸	+	-
α-ケトバレリン酸	-	+
D-アラニン	-	+
α-ヒドロキシ酪酸	-	+

【0037】6) FS-29株は、北海道美瑛市の泥炭より分離した10℃～30℃の低中温域でセルロース分解能を有する新規微生物である。本菌株の特徴は表12、13の通りであり、形態等の特徴から近縁種とし*Penicillium glabrum*があげられるが、糖の資化性の一部が異なり、したがって、この菌株を新種相当と認定した。そし

て、この菌株を*Penicillium* sp. FS-29とした。この菌株は工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-16481として寄託している。

【0038】

【表12】

Penicillium sp. FS-29の特徴

属名	形態			集落の形状		
	菌糸	胞子		Czapek 寒天培地	麦芽琼脂寒天培地	PDA寒天培地
<i>Penicillium</i>	隔壁あり	分生子, 単細胞, 亜球形	ベニシ! 単輪生体	白色綿状	白色, 中央部若干緑色, 綿状	薄い緑色粉状

【0039】

【表13】

Penicillium sp. FS-29の資化性

炭素源	FS-29	<i>Penicillium glabrum</i>
L-エリスリトール	+	+
D-メリビオース	+	+
D-フルクトース	+	+
β -メチル D-グルコシド	+	+
コハク酸	+	+
デキストリン	+	+
クエン酸	+	+
グリコーゲン	+	+
D-ガラクトース	+	+
D-ラフィノース	+	+
L-オルニチン	+	+
L-ラムノース	+	+
α -D-グルコース	+	+
D-ソルビトール	+	+
L-アラニン	+	+
L-プロリン	+	+
D-イノシトール	+	+
シュクロース	+	+
D-グルコン酸	+	+
D-トレハロース	+	+
L-アスパラギン	+	+
ツラノース	+	+
キナ酸	+	+
グリセロール	+	+
L-アラビノース	+	+
マルトース	+	+
キシリトール	+	+
D-グルカル酸	+	+
D-アラビトール	+	+
D-マンニトール	+	+
セロビオース	+	+
D-マンノース	+	+
L-ビログルタミン酸	+	-
L-ヒドロキシプロリン	-	+

【0040】7) FS-35は、北海道サロベツ泥炭より分離した30℃前後の中温域でリグニン分解能を有する新規微生物である。本菌株の特徴は表14、15の通りであり、形態等の特徴から近縁種として*Aspergillus terreus*があげられるが、糖の資化性の一部が異なり、したがって、この菌株を新種相当と認定した。そして、こ

の菌株を*Aspergillus* sp. FS-35とした。この菌株は工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-16483として寄託している。

【0041】

【表14】

Aspergillus sp. FS-35の特徴

属名	形態			集落の形状		
	菌糸	胞子		Czapek 寒天培地	麦芽汁寒天培地	PDA寒天培地
<i>Aspergillus</i>	隔壁あり	分生子, 単細胞, 球形	2	白色 綿状	褐色 粉状	褐色 綿状

【0042】

【表15】

Aspergillus sp. FS-35 の質化性

炭素源	FS-35	<i>Aspergillus terreus</i>
i-エリスリトール	+	+
D-メリビオース	+	+
D-フルクトース	+	+
イノシン	+	+
デキストリン	+	+
クエン酸	+	+
グリコーゲン	+	+
D-ラフィノース	+	+
ゲンチオビオース	+	+
フェニルエチルアミン	+	+
α-D-グルコース	+	+
D-ソルビトール	+	+
L-アラニン	+	+
L-プロリン	+	+
α-イノシトール	+	+
シュクロース	+	+
D-グルコン酸	+	+
α-D-ラクトース	+	+
D-トレハロース	+	+
L-アスパラギン	+	+
ツラノース	+	+
キナ酸	+	+
グリセロール	+	+
L-アラビノース	+	+
マルトース	+	+
D-グルカン酸	+	+
L-グルタミン酸	+	+
L-スレオニン	+	+
D-アラビトール	+	+
D-マンニトール	+	+
セバシン酸	+	+
セロビオース	+	+
D-マンノース	+	+
D-フルクトース	+	-
L-ピログルタミン酸	+	-
ラクツロース	+	-
2-アミノエタノール	-	+
D-ガラクトン酸ラクトン	-	+

【0043】 8) *Bacillus* sp. BS-1SMCP IIIは特開平5-91869号公報に記載の通り根圏土壌より分離した菌株をニトロソグアニジン処理して得られたクロラムフェニコール耐性を有するもので30℃前後の中温域でセルロース分解能を有する微生物である。そして、この菌株は工業

技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-12516として寄託されている。また、その菌学的性質は次の通りである。

【0044】

【表16】

Bacillus sp. BS-1SMCPⅢの特徴

形態	桿菌
細胞の長さ×幅 (μm)	(2~3)×0.8
グラム反応	-
胞子の形:楕円形	+
球形	
細胞内での胞子の位置:中央	+
端	
胞子嚢膨張の有無	+
移動性	+
嫌気条件下での生育	-
生育温度(最高)	45℃
V-P 反応	-
エッグヨーク反応	+
pH5.7の培地における生育	+
グルコースからの酸産生	+
アラビノースからの酸産生	-
キシロースからの酸産生	+
マンニトールからの酸産生	+
塩化ナトリウム (5~10%) 添加培地での生育	-
スターチの加水分解	+
カゼインの分解性	+
DNA の GC 含量	53.5

【0045】9) 本発明の芝のフェアリーリング病の防除剤は新規微生物CF-1、CF-3、FS-26、FS-29、FS-35、LB-5、LB-31とBS-1SMCPⅢの少なくとも一種以上を培養資材で培養することにより調製する。

【0046】この防除剤はそのままでも用いられるが、適当な個体担体、液体担体、乳化分散剤などを用いて、粒剤、粉剤、錠剤、乳剤、水和剤等の任意の形状で利用できる。この際、微生物の培養物の使用量は担体に対して0.1~50%である。また、この防除剤は無機肥料、有機肥料、除草剤等と共に使用することができる。

【0047】この防除剤のゴルフ場等の芝草への使用量は、芝草1㎡あたり1~1000gが好ましい。

【0048】

【実施例】以下、選抜した微生物を用いて製造した培養物を実施例により詳細に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例に限定されるものではない。

【0049】【実施例Ⅰ】本発明に関わる新規微生物CF-1、CF-3、FS-26、FS-29、FS-35、LB-5、LB-31とBS-1SMCPⅢを各々PD液体培地（ポテト抽出液20mL、グルコース20g、蒸留水1000mL）を用いて、30℃で7日間振盪を行った。この培養液625mLを等量混合した混合培養液5Lを水道水25Lへ加えた後、培養資材100kg（コメヌカ51kg、蒸製骨粉10kg、パーミキュライト28kg、木炭10kg、硫酸第一鉄1kg）へ添加混合した。

【0050】この培養資材を厚さ10cmに堆積し、発酵温度が40℃を越えないように適時切り返しを行い、添加微生物を増殖させた。その後、この培養資材を水分が10%になるまで自然乾燥させた。

【0051】【試験例】以下に、実施例Ⅰで製造した試験品を用いた試験例を示す。

【0052】【試験例Ⅰ】イナワラ堆肥分解試験（試験区）

区	1	2	3	4	5	6
処理	無処理	尿素 240g	試験品 240g	試験品 240g + 尿素 240g	硫酸 525g	試験品 240g + 硫酸 525g

【0053】【試験方法】200Lポリ容器へ生わら12kgを入れ上記試験区を設けて堆肥化試験を行った。試験開始後16日と45日後に切り返しを行う。

【0054】【試験結果】結果については図1に示した通り、イナワラの炭素分解率は堆積初期から試験品を添

加した区で大きく、特に試験品+尿素区では36日経過した頃には30%以上になり、72日目では50%を超えた。試験品単独区は次に分解率が高かった。

【0055】【試験例Ⅱ】
水田圃場での分解試験

【試験区】

区	1	2	3	4	5	6	7	8	9
処理	無処理 イナワ ラのみ	生ヌカ 春施用	生ヌカ 秋施用	石灰 窒素	他社 資材 1	他社 資材 2	他社 資材 3	試験品	試験品 + 尿素

【0056】【試験方法】

10月12日資材処理、11月16日、12月22日、翌年4月12日 イナワラ採取

【試験結果】図2に示した通り、イナワラの分解は資材施用初期から試験品添加区で高く、その後もこの傾向が継続し、特に12月～4月の低温期での分解も優れていた。

【0057】【試験例3】

キノコ廃オガ分解試験

【試験方法】メッシュバッグへ廃オガ（エノキ等菌茸類栽培残渣）と牛ふん尿および試験品を表1の割合で混合して詰め込み、雨よけシートを被覆して野外堆積を行った。

【0058】5月30日 堆積開始、7月18日 中間採取、8月29日 最終採取

【試験区】

区	廃オガ	牛ふん尿	試験品
処理	65 %	35 %	4 %
対照	65 %	35 %	—

【0059】【試験結果】堆積翌日より品温は急激に上昇し、ほぼ10日間にわたり50℃以上を維持した。その後は30℃前後で外気温より高く推移した。試験区（試験品添加）は全期間通じて品温が高めに推移し、特に堆積初期の温度差は大きく、分解促進効果が高かった。（図3）

化学性は炭素が処理区で約13%程度低く推移しており、微生物性についても試験品由来による糸状菌数が非常に多く推移した。（表17）こうしたことから、試験品の添加は廃オガの早期堆肥化に有効であった。

【0060】

【表17】

廃オガ堆肥の化学性および微生物性					(菌数 cfu/g 資材)			
		T-C %	T-N %	C/N	糸状菌 ×10 ⁴	色耐菌 ×10 ⁴	放線菌 ×10 ⁴	細菌 ×10 ⁴
試験	中間	39.5	1.84	21.5	320	—	—	47
	最終	37.8	1.86	20.3	280	6	1	340
対照	中間	45.1	1.69	26.1	14	—	—	67
	最終	43.8	1.79	24.5	40	25	82	240

【0061】【試験例4】

イナワラ堆肥化試験

【試験区】

区	1	2	3	4
処理	無処理	尿素 7kg/10a	試験品 7kg/10a	試験品 7kg/10a + 尿素 7kg/10a

【0062】【試験方法】1区水田7.5ha分のイナワラを使用して、上記処理を行い野積みした。

【0063】11月15日資材処理、12月24日、翌年4月25日 イナワラ採取

【試験結果】炭素率は堆積1か月後の無処理区で54.4に比較して、試験品+尿素区では19.3と1/3程度の数値となった。5か月後でも分解の程度に変化はなく、試験品+尿素区<試験品区<尿素区<無処理区の順に炭素率は低下した（図4）。

【0064】各処理を行った堆肥を土壌に施用してえん麦を栽培した結果、無処理区で生育抑制を若干示した以外は障害が認められなかった。試験品+尿素区のえん麦の生育は著しく向上した（図5）。

【0065】【試験例5】

フェアリーリング防除試験

【試験方法】ゴルフ場グリーン周りのフェアリーリング病が発生した場所へ、試験品を500g/m²となるように散布し、2ヶ月後に同じ場所へ200g/m²となるように散布

した。

【0066】〔試験結果〕試験品を散布した場所では、フェアリーリングの発生が抑制され、芝草が正常に生育した（図6、図7）。

【0067】〔実施例2〕本発明に関わる新規微生物CF-1、FS-35、LB-31、BS-1SMCP IIIを各々PD液体培地（ポテト抽出液20mL、グルコース20g、蒸留水1000mL）を用いて、30℃で7日間振盪を行った。この培養液1250mLを等量混合した混合培養液5Lを水道水25Lへ加えた後、培養資材100kg（コメヌカ51kg、蒸製骨粉10kg、パーミキュライト28kg、木炭10kg、硫酸第一鉄1k

g）へ添加混合した。

【0068】この培養資材を厚さ10cmに堆積し、発酵温度が40℃を越えないように適時切り返しを行い、添加微生物を増殖させた。その後、この培養資材を水分が10%になるまで自然乾燥させた。

【0069】〔試験例〕以下に、実施例2で製造した試験品を用いた試験例を示す。

【0070】〔試験例1〕
水田圃場での分解試験
〔試験区〕

区	対照	石灰窒素	試験
処理	無処理 イナワラのみ	石灰窒素 3kg/10a	試験品 4kg/10a

【0071】〔試験方法〕10月30日資材処理、翌年4月10日 イナワラ採取
〔試験結果〕表18に示した通り、イナワラの分解を示す炭素含量が試験区で低く、よってC/Nが最も低かつ

た。
【0072】
〔表18〕

イナワラの化学性

	全窒素(%) (N)	全炭素(%) (C)	C/N
対照区	0.688	34.9	50.8
石灰窒素区	0.650	33.8	52.0
試験区	0.649	30.4	46.8

【0073】〔試験例2〕
刈り芝の分解試験
〔試験区〕

り芝2kgと資材20gを混合し、水を加えて56日間堆積し、芝の窒素、炭素および微生物性を測定した。

【0075】〔試験結果〕表19に示した通り、刈り芝の分解を示す炭素含量が試験区で低く、分解活性を示す微生物数も試験区が非常に多かった。

【0076】
〔表19〕

区	対照	試験
処理	他社品 イナワラのみ	試験品 3kg/10a

【0074】〔試験方法〕1/2000a ワグネルポットに刈

刈り芝の化学性および微生物性 (菌数 cfu/g)

	全窒素(%) (N)	全炭素(%) (C)	C/N	糸状菌 ×10 ⁴	放線菌 ×10 ⁵	細菌 ×10 ⁶
対照区	1.82	40.6	22.3	2	40	9
試験区	1.63	36.0	22.1	127	330	203

【0077】

【発明の効果】本発明によればオガクズ、パークなどの木質物、イナワラ、ムギワラなどのワラ類、モミガラ、フスマなどの穀物残さ、茶・果樹等の剪定枝、野菜等収穫残さ、ゴルフ場などより出る刈り芝、家庭から排泄される生ゴミ、家畜排泄物、食品産業廃棄物等の難分解性有機物の早期分解が可能となり、良質な堆肥ができる。また、本発明によりフェアリーリング病を防除すること

ができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】堆積イナワラの炭素分解率を示す図。

【図2】試験期間中におけるイナワラの炭素分解率を示す図。

【図3】腐オガ堆積に伴う品温の推移を示す図。

【図4】堆積イナワラの炭素率を示す図。

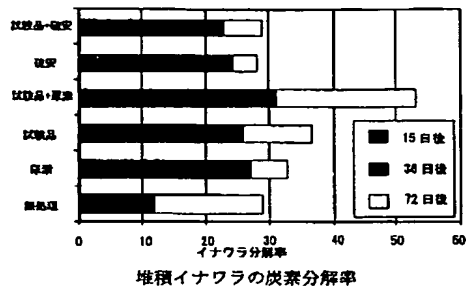
【図5】堆積イナワラによるえん麦栽培試験結果の示す

図。

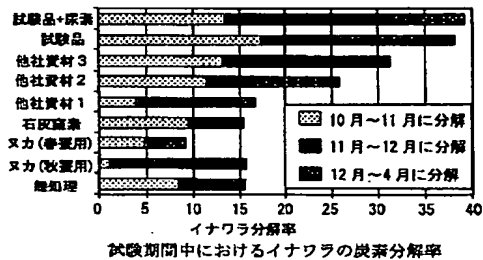
【図6】フェアリーリング病により芝が枯れた状態を示す写真。

【図7】試験品施用によりフェアリーリング病の抑制を示す写真。

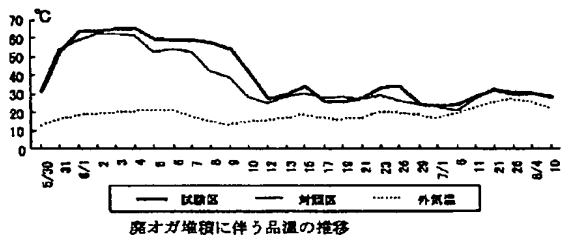
【図1】



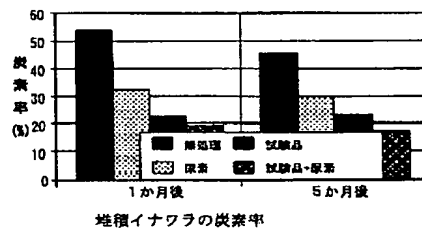
【図2】



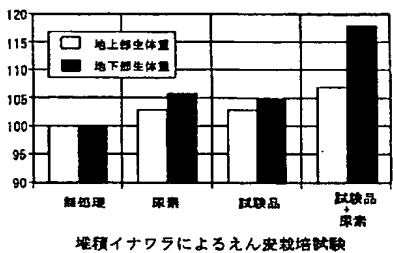
【図3】



【図4】



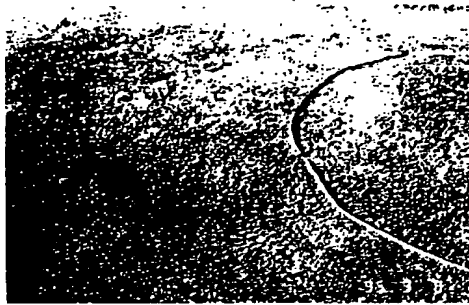
【図5】



【図6】



【図 7】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁶	識別記号	F I	
C 1 2 N 1/16		C 1 2 N 1/16	G
			D
// C 0 5 F 11/08		C 0 5 F 11/08	
(C 1 2 N 1/20			
C 1 2 R 1:07)			
(C 1 2 N 1/14			
C 1 2 R 1:80)			
(C 1 2 N 1/14			
C 1 2 R 1:66)			
(C 1 2 N 1/16			
C 1 2 R 1:645)			
(72) 発明者 赤澤 貴徳			
茨城県土浦市並木 5 丁目 5511 番地 片倉チ			
ッカリン株式会社筑波総合研究所内			

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016088

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N1/14, A01G7/00, A01G16/00, A01N63/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N1/14, A01G7/00, A01G16/00, A01N63/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

MEDLINE (STN), WPI (IALOG), BIOSIS (IALOG), JSTPlus (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	Yuzo FUJII et al., "Penicillium decumbens kara no Ine Imochibyokin Melanin Gosei Sogai Busshitsu", 2001 Nendo Nogei Kagakukai Kansai Nishinohon Chushikoku Shibu Godo Taikai Koen Yoshishu (2001), page 8	1 2-13
X Y	Yuzo FUJII et al., "Penicillium decumbens kara no Ine Imochibyokin Melanin Gosei Sogai Busshitsu -second report-", 2002 Nendo (Heisei 14 Nendo) Nogei Kagakukai Taikai Koen Yoshishu (2002), page 78, 3-2Cp11	1 2-13
X Y	OKEKE B. et al., Fungal metabolite extracts active against phytopathogens. Sci.Total Environ (1994), Vol.155, No.2; pages 125 to 130	1 2-13

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
14 January, 2005 (14.01.05)Date of mailing of the international search report
01 February, 2005 (01.02.05)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016088

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	RENWICK A. et al., Assessment of in vivo screening systems for potential biocontrol agents of <i>Gaeumannomyces graminis</i> . Plant Pathol (1991), Vol.40, No.4; pages 524 to 532	1 2-13
X Y	JP 11-225747 A (Katakura Chikkarin Kabushiki Kaisha), 24 August, 1999 (24.08.99), Full text (Family: none)	1,8-12 2-7,13
A	WO 95/14784 A (MONSANTO CO.), 01 June, 1995 (01.06.95), Full text & AU 9481209 A & EP 733116 A1 & CZ 9601317 A3 & SK 9600655 A3 & HU 74393 T & JP 9-506249 A & BR 9408140 A & CN 1136329 A & SK 280613 B6 & CN 1066198 C	1-13
A	KOCH E. et al., Evaluation of commercial products for microbial control of soil-borne plant diseases. Crop Prot (1999), Vol.18, No.2; pages 119 to 125	1-13
A	STOSZ S.K. et al., In Vitro Analysis of the Role of Glucose Oxidase from <i>Talaromyces flavus</i> in Biocontrol of the Plant Pathogen <i>Verticillium dahliae</i> . Appl Environ Microbiol (1996), Vol.62, No.9; pages 3183 to 3186	1-13
A	MADI L. et al., Biological Control of <i>Sclerotium rolfsii</i> and <i>Verticillium dahliae</i> by <i>Talaromyces flavus</i> Is Mediated by Different Mechanisms. Phytopathology (1997), Vol.87, No.10; pages 1054 to 1060	1-13